

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. H. Kewitz

**Verteilung und Stoffwechsel
von i.v. appliziertem radiomarkiertem
Cholin und deren Beeinflussung
durch Phenobarbitalvorbehandlung und Urethannarkose**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Julia-Maria Baumgarten
aus Lutherstadt Wittenberg

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. H. Kewitz

**Verteilung und Stoffwechsel
von i.v. appliziertem radiomarkiertem
Cholin und deren Beeinflussung
durch Phenobarbitalvorbehandlung und Urethannarkose**



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Julia-Maria Baumgarten
aus Lutherstadt Wittenberg

Referent: Professor Dr. H. Kewitz

Korreferent: Professor Dr. F. von Bruchhausen



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der
Freien Universität Berlin

Promoviert am: 30.8.77

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	5
2.1. Tiere	
2.2. Verwendete Chemikalien	
2.3. Radioaktive Substanzen	
2.4. Präparation der Organe	
2.5. Extraktionsverfahren	
2.6. Papierchromatographie	
2.7. Bestimmung des freien Cholins	
2.8. Aufarbeitung und Bestimmung des Lipidcholins	
2.9. Urethannarkose	
2.10. Phenobarbitalvorbehandlung	
2.11. Messung der Radioaktivität	
3. Ergebnisse	11
3.1. Metabolismus von i.v.injiziertem (^3H -Methyl) Cholin im Blut der Ratte	11
3.2. Aufnahme von i.v.injiziertem (^3H -Methyl) Cholin in verschiedene Organe der Ratte	11
3.3. Metabolismus von radiomarkiertem Cholin in den Organen	17
3.4. Cholinstoffwechsel in der Urethannarkose und nach Vorbehandlung mit Phenobarbital	20
3.4.1. Relatives Organgewicht	20
3.4.1.1. Urethannarkose	
3.4.1.2. Vorbehandlung mit Phenobarbital	
3.4.2. Konzentrationen des freien Cholins und Lipidcholins	21
3.4.2.1. Urethannarkose	
3.4.2.2. Vorbehandlung mit Phenobarbital	
3.4.3. Verteilung und Stoffwechsel von radiomarkiertem Cholin	23
3.4.3.1. Urethannarkose	
3.4.3.2. Vorbehandlung mit Phenobarbital	

4. Diskussion	Seite 31
5. Zusammenfassung	39
6. Literaturverzeichnis	41

1. Einleitung

Cholin wird teils mit der Nahrung zugeführt und teils im Körper synthetisiert.

In den Organen kommt es in gebundener und in freier Form vor. Als basischer Bestandteil der Phospholipide Lecithin, Plasmalogen und Sphingomyelin ist Cholin im Blutplasma und im Cytoplasma aller Zellen enthalten, am Aufbau der Markscheiden von Nervenfasern sowie generell am Aufbau aller Membranen der Zelle, der äußeren Zellmembranen, der Kernmembranen, der Mitochondrienmembranen und am Aufbau des endoplasmatischen Retikulums beteiligt. Der Essigsäureester des Cholins, das Acetylcholin, dient als Überträgersubstanz an den Endigungen der cholinergen Neuronen des zentralen und peripheren Nervensystems.

Die Angaben über den Cholingehalt der einzelnen Organe variieren in weiten Grenzen je nach Art der Extraktion, Isolierung und Bestimmungsmethode. Die Cholinkonzentration im Hirn kann z.B. durch Abspaltung von Cholin aus Glyzerylphosphorylcholin unmittelbar nach dem Töten der Tiere rasch ansteigen (DROSS und KEWITZ 1972).

Wegen des weitverbreiteten Vorkommens von Cholin ist es nicht verwunderlich, daß schon bald nach der erstmaligen Isolierung durch STRECKER (1849) aus Galle und der Gewinnung aus Sinalbin, einem Glucosid des Senfsamens, durch v.BABO und HIRSCHBRUNN (1852) Untersuchungen über das Verhalten von Cholin im Körper begannen.

BOEHM (1885) fand, daß Cholin nach intravenöser Applikation sehr schnell aus dem Kreislauf verschwindet. Bei Versuchen an Kaninchen und Ratten wurde gezeigt, daß 90% der i.v.injizierten Cholinmenge innerhalb einer Minute aus dem Blut eliminiert werden (HUNT 1915; DROSS und KEWITZ 1966 und 1972).

GARDINER und PATON (1972) konnten diesen Befund durch

Experimente an der Katze bestätigen. Eine Minute nach Gabe von 10-100 μ Mol Cholin/kg waren 85% der applizierten Cholinmenge aus dem Blut verschwunden.

In anderen Arbeiten wurde die Aufnahme von Cholin aus dem Blut in die Organe untersucht. Ellinger (1914) fand beim Kaninchen einen Teil des verabreichten Cholins in der Haut. Nach BLIGH (1953) wird Cholin beim Hund durch Niere und Leber ausgeschieden, denn nach Entfernen der beiden Organe verlangsamte sich die Geschwindigkeit, mit der das verabreichte Cholin aus dem Blut verschwindet. RIGLER (1961) stellte fest, daß nach Milzexstirpation bei Ratten keine Veränderung des Plasmacholinpiegels eintritt.

Obwohl das schnelle Verschwinden des Cholins aus dem Blut und die bemerkenswerte Konstanz des Plasmaspiegels schon lange bekannt und beschrieben worden sind, besteht über die Verteilung und die Aufnahme in die Organe noch keine Klarheit. Da Cholin eine stark polare Substanz ist, die sich gut in Wasser aber schlecht in Lipiden löst, nehmen zahlreiche Autoren an, daß es Membranen schlecht durchdringt und für den Membrantransport des Cholins ein besonderes Transportsystem notwendig ist. Anhaltspunkte dafür, daß ein Carriersystem vorhanden ist, wurden durch Untersuchungen an verschiedenen Organen und subzellulären Strukturen gefunden (HODGKIN und MARTIN 1965; SCHUBERTH, SUNDWALL, SÖRBO und LINDELL 1966; ABDEL-LATIF und SMITH 1972; DIAMOND und MILFAY 1972; SUNG und JOHNSTONE 1965; MARTIN 1968; SANDFORD und SMYTH 1969). Nach Untersuchungen an Hirnschnitten (SCHUBERTH, SUNDWALL, SÖRBO und LINDELL 1966) erfolgt die Aufnahme von Cholin gegen einen Konzentrationsgradienten unter Verbrauch von Glucose und Sauerstoff. Durch 2,4 Dinitrophenol (DNP) kann die Aufnahme gehemmt werden. Somit sind die Merkmale eines aktiven Transportprozesses erfüllt (v. OS, ARIENS und SIMONIS 1964). DIAMOND und MILFAY (1972) allerdings finden an Synaptosomen keine Anreicherung von Cholin und nur eine geringe Hemmung der Aufnahme durch DNP.

Nach Aufnahme in die Zelle wird Cholin durch Acetylierung zu Acetylcholin, durch Oxidation zu Betain und durch Einbau in das Lipid weiter verarbeitet.

Der Einbau von Cholin in die Phospholipide erfolgt erstens über den von KENNEDY und WEISS (1956) beschriebenen Weg, wobei als Zwischenprodukte Phosphorylcholin und Cytidindiphosphatcholin (CDP-Cholin) gebildet werden. Der Phosphorylcholin-Anteil von CDP-Cholin wird dann auf ein Diglycerid übertragen.

Zweitens kann Cholin über einen durch Ca^{++} stimulierbaren Austausch mit den in den Phospholipiden vorhandenen Basen in das Lecithin eingebaut werden (DILS und HÜBSCHER 1959 und 1961). Hierbei kommt es nicht nur zum Austausch von freiem Cholin gegen im Phospholipid vorhandenes Cholin. Auch der Austausch von Cholin gegen Äthanolamin oder Serin ist möglich (BJERVE 1973).

Außerdem kann Lecithin auch durch schrittweise N-Methylierung von Phosphoryläthanolamin gebildet werden (BREMER, FIGARD und GREENBERG 1960; BREMER und GREENBERG 1961). Als direkter Methylgruppendonator dient S-Adenosyl-Methionin. Die Methylgruppen stammen aus dem Betain, das durch Oxidation aus Cholin entsteht.

Schließlich ist auch eine Synthese von Lecithin aus Lysolecithin möglich, wobei eine Fettsäure entweder von acyliertem CoA (LANDS 1960; LANDS und MERKL 1963) oder aus einem zweiten Lysolecithinmolekül (BALINT, BEELER, TREBLE und SPITZER 1967) übertragen wird.

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, mit welcher Geschwindigkeit und in welchem Ausmaß Cholin in die Organe der Ratte eindringt. Dazu wurden Tracerdosen von radiomarkiertem Cholin intravenös injiziert. Gemessen wurde der Einbau in das Lipidcholin und die Oxidation zu Betain in Leber, Niere

und Muskel. Außerdem wurde geprüft, ob die Verteilung, der Einbau oder die Oxidation durch Vorbehandlung mit Phenobarbital oder in der Urethannarkose verändert werden.

Die Vorbehandlung mit Phenobarbital führt zu einer Induktion mikrosomaler, Arzneimittel abbauender Enzyme. Dabei kommt es zur Vermehrung der glatten Membranen des endoplasmatischen Retikulums und somit auch zu einem Anstieg der Phospholipide in der Leber (REMMER 1959 und 1963; REMMER und MERKER 1963; WIRTZ und ZILVERSMIT 1969; YOUNG, POWELL und McMILLAN 1971). Für die Erhöhung der Phospholipidkonzentration ist entweder ein verminderter Abbau (INFANTE, PETIT, POLONOVSKI, CAROLI 1971; HOLTZMANN und GILETTE 1966 und 1968) oder eine Zunahme der Synthese (YOUNG, POWELL und McMILLAN 1971; ORRHENIUS, ERICSSON und ERNSTER 1965) verantwortlich. TH.SCHWARTZKOPFF (Inaugural-Dissertation 1975) und MÜCK (Inaugural-Dissertation 1975) stellten fest, daß nach Phenobarbitalvorbehandlung der Einbau von i.v.injiziertem Cholin in das Lipidcholin des Muskels beschleunigt ist, und die Konzentration des freien Cholins abnimmt.

In der Urethannarkose zeigte sich bei Untersuchungen an Ratten im Gehirn (DROSS und KEWITZ 1967 und 1968) eine Zunahme des freien Cholins und eine Verminderung des Einbaus ins Lipidcholin. ANSELL und DOHMEN (1957) untersuchten den Einbau von ^{32}P in das Phosphatidylcholin des Rattenhirns unter Thiopentalnarkose und fanden einen um 25% reduzierten Einbau. DIAMOND (1971) und SCHUBERTH, SPARF und SUNDWALL (1969) stellten eine verminderte Aufnahme von markiertem Cholin in das Gehirn der Maus in Narkose fest.

Die Arbeit sollte die Voraussetzungen für Untersuchungen über den Lipidstoffwechsel mit Hilfe von radiomarkiertem Cholin liefern. Die Ergebnisse unter Kontrollbedingungen werden mit Untersuchungen in Urethannarkose und nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital verglichen.

2. Material und Methoden

2.1. Tiere

Die Untersuchungen wurden an männlichen Sprague-Dawley-Ratten mit einem Gewicht zwischen 140 und 180 g durchgeführt. Die Tiere stammten aus SPF-Kolonien der Firma Mus-Rattus AG aus Brunnthal, Obb. Sie wurden im Institut unter konventionellen Bedingungen gehalten. Als Nahrung erhielten sie standardisiertes, pelletiertes Futter der Firma Altromin GmbH, Lage, und Leitungswasser ad libitum.

2.2. Verwendete Chemikalien

Alle verwendeten Substanzen wurden aus dem Handel bezogen. Sie wiesen den Reinheitsgrad "reinst" oder "pro analysi" auf.

2.3. Radioaktive Substanzen

Methyl-³H-markiertes Cholin mit einer spezifischen Aktivität von 15.4 Ci/mMol wurde von dem Radiochemical Center, Amersham, England, bezogen. Es wurde so gelöst, daß 10 μ Ci in 1 ml physiol. Kochsalzlösung waren. Den Tieren wurden 20 μ Ci/100 g Körpergewicht in die Schwanzvene injiziert.

2.4. Präparation der Organe

Nach dem Töten der Tiere durch Dekapitation wurden Leber, Milz, Niere, Hoden, Herz und Lunge sowie Magen, Dünndarm und Dickdarm (jeweils mit Inhalt) in toto entnommen. Ein Stück Muskelgewebe von 1,6-2 g Gewicht wurde aus dem Oberschenkel, ein Stück Fettgewebe von ca. 0,7 g aus dem Unterhautfettgewebe der Bauchdecke freipräpariert. Etwa 2,5-3 g Blut ließen sich durch Entbluten bei der Dekapitation gewinnen. Ein ca. 5 cm langer und 0,5 cm breiter Streifen Haut wurde vor dem Homogenisieren mit einer Schere möglichst

klein zerschnitten.

2.5. Extraktionsverfahren

Die Gewebe wurden nach dem Verfahren von STONE (1955) extrahiert. Um den Zeitraum zwischen Tötung und Eiweißdenaturierung der Organe möglichst klein zu halten, erwies es sich als günstig, aus einem Tier nicht mehr als vier Organe zu entnehmen. Das Gewebe wurde nach der Entnahme gewogen und in 40 ml 95%igem Äthanol, der 0,2% Eisessig enthielt, mit dem Ultra-Turrax 30 sec homogenisiert, 30 min geschüttelt und 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und im Wasserbad bei 70°C zur Trockne eingedampft. Zur Lipidextraktion wurde dieser Trockenrückstand mit 2 ml 0,1 n Essigsäure aufgenommen und dann mit 35 ml Heptan/Amylalkohol (Mischungsverhältnis 2 : 1) zweimal und mit 25 ml Äther einmal ausgeschüttelt. Die organischen Phasen wurden gesammelt, vereinigt und eingetrocknet. Der getrocknete Extrakt der wässrigen Phase wurde mit 2 ml Methanol aufgenommen und davon 1,5ml zur chromatographischen Auftrennung verwendet.

2.6. Papierchromatographie

Cholin läßt sich von anderen Cholinestern mit geeigneten Laufmitteln durch Papierchromatographie abtrennen (DROSS 1965). Dazu diente Papier der Firma Schleicher & Schüll Nr. 2043 b Mgl, das zur absteigenden Chromatographie in Bögen der Größe 26,5x59,5 cm verwendet wurde. Die eingeeengten methanolischen Extrakte wurden als ca. 3 cm breite Streifen im Abstand von 4 cm auf der Startlinie aufgetragen.

Zwei Laufmittel wurden nacheinander angewendet:

a) Neutrales Laufmittel:

n-Propanol : 0,2 mol. Ammonacetat = 4 : 1 (DROSS 1965)

b) Saures Laufmittel:

n-Butanol : n-Propanol : 98% Äthanol : 80% Ameisensäure : Wasser = 6 : 2 : 1 : 1 : 1 (KEWITZ 1959)

Das erste Laufmittel lief 20 Stunden, das zweite 16 Stunden.

Zur Lokalisation der Substanzen auf den Chromatogrammen liefen an beider Seiten der Chromatographiebögen ca. 20 µg Cholinchlorid, Acetylcholinchlorid und Betain mit. Die Kontrollstreifen wurden abgeschnitten und mit Dragendorffs Reagenz angefärbt.

Der Cholinleck färbte sich blau-violett, der Acetylcholinleck rosa und der Betainleck hellgelb.

Zur quantitativen Bestimmung wurden die dem Cholinleck entsprechenden Bezirke der Proben ausgeschnitten und mit bidestilliertem Wasser 4-5 Stunden bis zu einem Volumen von 1,5 ml eluiert.

Dragendorffs Reagenz (modifiziert nach KEWITZ 1953):

2,6 g basisches Wismutkarbonat und 7,0 g Natriumjodid werden in 25 ml Eisessig durch Aufkochen gelöst, nach dem Abkühlen die ausgefallenen Natriumacetatkristalle abfiltriert und mit 4 Vol. Essigsäureäthylester versetzt. Diese Stammlösung ist lichtgeschützt unbegrenzt haltbar. Zur Anwendung werden unmittelbar vor der Anfärbung 4 Vol. Stammlösung mit 5 Vol. Eisessig und 12 Vol. Essigsäureäthylester versetzt.

2.7. Bestimmung des freien Cholins

Für die Bestimmung des freien Cholins sind biologische und chemische Verfahren entwickelt worden. Bei der biologischen Methode wird Cholin acetyliert und die Menge des Acetylcholins am Muskulus rectus abdominis des Frosches durch Vergleich mit der Kontraktionsstärke nach Zugabe bekannter Mengen quantitativ bestimmt (CHANG und GADDUM 1933).

Chemisch kann Cholin als Reineckat (KRAUPP und PAUMGARTNER 1962), als Enneajodidkomplex (APPLETON 1953), nach Reaktion mit cis-Aconitinsäureanhydrid, als Komplex mit Dipikrylamin nach SCHILL (KAKÁČ und VEJDELEK 1963) bestimmt werden. In dieser Arbeit wurden die Cholinbestimmungen mit der Dipikrylaminmethode durchgeführt.

Dipikrylamin gibt in wässriger Lösung unlösliche Komplexe mit vielen organischen Basen, die sich in Aceton und Chloro-

form lösen. Das für Propanthelin entwickelte Verfahren wurde von DROSS (1965) für die Bestimmung von Cholin abgeändert. Man erfaßt mit dieser Methode noch 2 nMol Cholin.

Reagenzien:

1.) Dipikrylaminlösung: 5 mg Dipikrylamin in 100 ml Dichlormethan

2.) 0,1 n Natronlauge

Ausführung:

0,4 ml Probenlösung werden mit 0,1 ml 0,1 n Natronlauge und 3 ml Dipikrylaminlösung versetzt. Nach 5 min Schütteln werden die beiden Phasen durch Zentrifugieren getrennt. Dabei färbt sich die Dichlormethanphase je nach Cholingehalt gelb bis hellbraun. Die organische Phase wird wasserfrei in ein trockenes Glas unter Zusatz einer Spatelspitze Na_2SO_4 überführt. Die Messung der Extinktionen erfolgt in 1 cm Küvetten bei 420 nm im Spektralphotometer der Firma Zeiss, Oberkochen. Bei jeder Messung lief eine Eichreihe mit, die aus einer Lösung mit 200 nMol Cholinchlorid/ml hergestellt wurde. Korrelationskoeffizient 0,9998.

An Hand dieser Eichkurve wurden die Cholinmengen in den Organen in nMol Cholin berechnet und auf 1 g Frischgewicht des Gewebes bezogen.

2.8. Aufarbeitung und Bestimmung des Lipidcholins

Aus dem Phosphatidylcholin wird durch alkalische oder saure Hydrolyse Cholin freigesetzt, das dann als freies Cholin bestimmt werden kann. Analysen des Lipidcholins erfolgten in Leber, Niere und Muskel. Von den ca. 95 ml der organischen Phase, die bei der Lipidausschüttelung mit Heptan/Amylalkohol und Äther gewonnen wurden, dienten zur Bestimmung des Lipidcholins bei der Leber 3 ml und bei der Niere und beim Muskel 20 ml.

Zu den getrockneten Extrakten wurden 40 ml einer 1 n äthanolischen Natronlauge gegeben und über Nacht bei Zimmertemperatur geschüttelt. Unter Zusatz von 50 µl Methylrot als Indikator wurde mit konzentrierter Salzsäure bis zur Rosafärbung

neutralisiert, dann zentrifugiert, der Überstand abgenommen und eingeeengt. Die Fettsäuren wurden dann mit 20 ml Heptan/Amylalkohol gegen 3 ml Wasser ausgeschüttelt.

Die Isolierung und Bestimmung des Cholins erfolgte wie beim freien Cholin durch Chromatographie und quantitative Bestimmung mit der Methode nach SCHILL wie oben beschrieben.

2.9. Urethannarkose

Die Tiere wurden durch intraperitoneale Injektion von Urethan (E. Merck AG) in einer Dosis von 150 mg pro 100 g Körpergewicht narkotisiert. Die Injektionslösung enthielt 300 mg Urethan/ml 0,9%iger Natriumchloridlösung. Den Tieren wurde 30-45 min nach Beginn der Narkose das radiomarkierte Cholin in die Schwanzvene injiziert.

2.10. Phenobarbitalvorbehandlung

Die Tiere wurden an drei aufeinander folgenden Tagen mit Phenobarbital behandelt. Am ersten Tag erhielten sie um 8 h und um 17 h, am zweiten und dritten Tag jeweils zwischen 8 h und 10 h 8 mg Phenobarbital pro 100g Körpergewicht (2 mg Phenobarbital/0,1 ml 0,9%iger Kochsalzlösung) intraperitoneal injiziert. Der Zugang zu Futter und Wasser war nicht eingeschränkt. Am vierten Tag, 24 Stunden nach der letzten Phenobarbitalinjektion, erfolgte um 8 h die Applikation von radio-markiertem Cholin.

Während der ersten beiden Tage der Vorbehandlung waren die Tiere schläfrig, fraßen weniger und die Gewichtszunahme war geringer als bei den Kontrolltieren. Danach waren die Tiere wach und nahmen normal (5-10 g/Tag) an Gewicht zu. Bei der Aufarbeitung und Bestimmung des Cholins und Lipidcholins wurde in gleicher Weise vorgegangen wie bei den Kontrolltieren.

2.11. Messung der Radioaktivität

0,2-1 ml der Proben wurden mit 10 ml Szintillatorlösung in Dioxan aufgenommen.

Zur Bestimmung der Radioaktivität im Betain wurden die entsprechenden Areale der Chromatographiebögen direkt in die Zählköpfchen eluiert und mit Szintillatorlösung aufgenommen.

Zusammensetzung der Szintillatorlösung: 100 g Naphthalin, 10 g 2,5-Diphenyloxazol (PPO), 0,25 g 2,2-p-Phenylene-bis-(4-Methyl-5-Phenyloxazol) (Dimethyl-POPOP) pro 1 l Dioxan.

Die Impulse wurden in einem Flüssigkeitsszintillator Packard Tricarb Modell 3314 gezählt.

Die Zählausbeute betrug für ^3H 20% der Zerfallsrate, die Standardstreuung höchstens 2.5%.

3. Ergebnisse

3.1. Metabolismus von i.v.injiziertem (^3H -Methyl) Cholin im Blut der Ratte

Nach i.v.Injektion einer Tracerdosis von (^3H -Methyl) Cholin wurden die Gesamtradioaktivität des Blutes sowie die Radioaktivität im freien Cholin und im Lipidcholin nach Inkorporationszeiten von 1,5,10 und 20 Minuten untersucht.

Im freien Cholin des gesamten Blutvolumens der Ratte waren nach 1 Minute noch 3.3% und nach 20 Minuten noch 0.2% der injizierten Radioaktivität zu messen (Tabelle 1). Die im Vollblut ermittelte Gesamtradioaktivität betrug 4.8% (1 Minute) sowie 0.8% (20 Minuten) der injizierten Dosis (Tabelle 1). Im Lipidcholin war zu den hier untersuchten Zeiten nur ein minimaler Teil von weniger als 0.3% der injizierten Dosis zu finden.

Aus Tabelle 2 ist zu erkennen, daß der Anteil des freien Cholins (^3H -Methyl) an der Gesamtradioaktivität von 69% (1 Minute) auf 25% (20 Minuten) absank. Die verbleibende Radioaktivität befand sich in geringem Ausmaß im Lipidcholin des Blutes, wo der Anteil von 2.4% (1 Minute) auf ca. 11% (20 Minuten) anstieg. Der größere Teil - nämlich 29% (1 Minute) und 64% (20 Minuten) - entfiel auf die Fraktion der nicht weiter aufgetrennten wasserlöslichen Metabolite.

3.2. Aufnahme von i.v.injiziertem (^3H -Methyl) Cholin in verschiedene Organe der Ratte

In den folgenden Experimenten wurde die rasche Cholinelimination aus dem Blut näher analysiert. Nach i.v.Injektion einer Tracerdosis von (^3H -Methyl) Cholin wurden die Gesamtradioaktivität, die Radioaktivität im freien Cholin und im Lipidcholin sowie die Radioaktivität der wasserlöslichen Metabolite in den Organen ermittelt.

Tabelle 1

Radioaktivität (DPM/g $\times 10^3$) im freien Cholin und im Lipidcholin des Blutes, sowie Gesamtradioaktivität nach i.v. Injektion von 20 μ Ci (3 H-Methyl) Cholin/100 g Körpergewicht. In Klammern: Prozent der applizierten Dosis im gesamten Blutvolumen der Ratte. n=3.

	Freies Cholin	Lipidcholin	Gesamtradioaktivität
1'	160 $\pm$ 37 (3.3)	5.6 $\pm$ 0.9 (0.1)	231 $\pm$ 30 (4.8)
5'	59 $\pm$ 9.3 (1.0)	14.8 $\pm$ 4.9 (0.2)	108 $\pm$ 9.7 (1.9)
10'	28 $\pm$ 5.1 (0.5)	12.7 $\pm$ 0.7 (0.2)	91 $\pm$ 19 (1.6)
20'	12 $\pm$ 1.4 (0.2)	5.2 $\pm$ 1.1 (0.1)	49 $\pm$ 7.9 (0.8)

Tabelle 2

Verteilung der Gesamtradioaktivität des Blutes auf das freie Cholin (Ch), das Lipidcholin (LCh) und die wasserlöslichen Metabolite (WM).
Angabe in Prozent der Gesamtradioaktivität des Blutes.

	Ch	LCh	WM
1'	69	2.4	28.6
5'	54	13	33
10'	30	14	56
20'	25	11	64

Tabelle 3

Gesamtradioaktivität ($\text{DPM/g} \times 10^3$) in den Organen 5, 10 u. 20 Min nach i.v.-Injektion von $20 \mu\text{Ci}(^3\text{H-Methyl})\text{Cholin}/100\text{g Körpergewicht}$. Muskel, Niere, Leber, Blut $n=3$, sonst $n=1$.

nMol/g : Konzentration an freiem Cholin. Mittelwerte und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$). In Klammern Anzahl der Tiere.

DPM/g : Verhältnis der Gesamtradioaktivität nach 5 Min zur Cholinkonzentration.

	5'	10'	20'	nMol/g	$\frac{\text{DPM/g}}{\text{nMol/g}}$
Niere	2.535 ± 299	2.028 ± 788	1.977 ± 215	234 ± 70 (12)	10.8
Lunge	1.261	1.537	1.958	119 ± 24 (9)	10.6
Leber	841 ± 106	1.021 ± 30	$994 \pm 6?$	72.7 ± 14.9 (11)	11.5
Herz	642	585	683	62 ± 14.7 (5)	10.4
Milz	273	322	286	149 ± 24.5 (7)	1.6
Muskel	234 ± 39	205 ± 38	189 ± 33	60.7 ± 18.5 (10)	3.8
Blut	108 ± 9.7	91 ± 19	49 ± 7.9	10.3 ± 2.9 (8)	10.4
Haut	107	167	150	80.5 ± 6.8 (4)	1.3
Fett	103	94	107	62.2 ± 11 (6)	1.6
Hoden	97	86	91	240 ± 66.9 (6)	0.4
Dünndarm	345	196	342	$40? \pm 81$ (4)	0.8
Dickdarm	132	178	218	163 ± 20 (5)	0.8
Magen	75	89	140	581 ± 467 (5)	0.12

Tabelle 3 zeigt, daß hinsichtlich der pro Gramm Organgewicht aufgenommenen Menge an Gesamtradioaktivität beträchtliche Unterschiede bestehen.

Besonders viel Radioaktivität fand sich in der Niere, wo nach 20 Minuten die Gesamtradioaktivität das Vierzigfache der Blutkonzentration erreichte. Sehr hohe Werte wurden auch in der Lunge gemessen, gefolgt von der Leber und dem Herzen. In Muskel, Haut, Fett und Hoden betrug die Konzentration (^3H) $1/10$ bis $1/20$ von der in der Niere. Die Konzentration an Radioaktivität in den Organen veränderte sich während der 20 Minuten nicht wesentlich.

Aus Tabelle 3 geht weiter hervor, welcher Zusammenhang zwischen endogener Cholinkonzentration und Aufnahme von radiomarkiertem Cholin der verschiedenen Organe besteht. In der rechten Spalte sind die Cholinkonzentrationen aufgeführt. Die weitaus geringste Menge an freiem Cholin mit 10.3 nMol/g fand sich im Blut. Leber, Haut, Herz, Muskel und Fett haben einen Cholingehalt zwischen 60 und 80 nMol/g . Die Lunge enthält knapp doppelt so viel, 119 nMol/g , dann folgen Milz und Dickdarm mit 149 und 163 nMol/g . Noch höher liegen die Konzentrationen im Hoden und in der Niere mit 234 und 240 nMol/g . Die höchsten Konzentrationen fanden sich im Dünndarm und im Magen mit 402 und 581 nMol/g , was durch die darin enthaltene Nahrung und das mit der Galle in den Darm gelangende Cholin bedingt ist. In der Spalte ganz rechts wird das Verhältnis der pro Gramm Organgewicht aufgenommenen Gesamtradioaktivität zur endogenen Cholinkonzentration aufgeführt. Bei den Organen Niere, Lunge, Leber und Herz ist das Verhältnis genauso groß wie im Blutplasma, nämlich ca. 11 , obwohl die Cholinkonzentration zwischen 234 und 62 nMol/g schwankt. Bei den Organen Fett, Haut, Milz, Muskel und Hoden ist die Relation wesentlich geringer, sie beträgt zwischen $3,8$ im Muskel und $0,4$ im Hoden. Für die Organe Dünndarm, Dickdarm und Magen sagen die Quotienten wegen des unterschiedlichen Inhalts nicht viel aus.

7

Prozentuale Verteilung der Gesamtradioaktivität auf die Organe.

Prozent von der Summe der aus den Organen extrahierten Gesamtradioaktivität.

	5'	10'	20'
Muskulatur	45	41	38
Leber	14	18	19.6
Haut	8.5	14.4	12.9
Niere	9.6	7.5	7.3
Dünndarm	9.2	5.0	7.3
Lunge	3.7	3.9	4.6
Blut	2.9	2.4	1.3
Fett	2.2	2.3	2.7
Dickdarm	1.7	2.2	2.7
Magen	1.3	1.3	1.4
Herz	1.1	1.0	1.1
Milz	0.4	0.6	0.6
Hoden	0.4	0.4	0.5
	100.0	100.0	100.0

Abbildung 1

Prozentuale Verteilung der Gesamtradioaktivität auf die Organe 5 min nach i.v. Injektion von 20 μ Ci (3 H-Methyl) Cholin/100 g Körpergewicht. Graphische Darstellung der in Tabelle 4 gezeigten Werte.

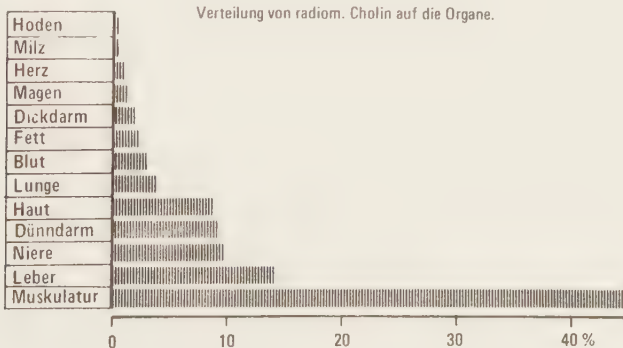


Tabelle 5

Radioaktivität (DPM/g $\times 10^3$) im freien Cholin und im Lipidcholin der einzelnen Organe nach i.v. Injektion von 20 μ Ci (3 H-Methyl) Cholin/100 g Körpergewicht. Muskel, Niere, Leber, Blut n=3, sonst n=1.

Cholin	5'	10'	20'
Muskel	114.8 $\pm$ 24.6	80.0 $\pm$ 16.2	38.9 $\pm$ 3.8
Dünndarm	147.1	72.0	28.4
Haut	26.4	22.7	11.2
Blut	59.0 $\pm$ 9.3	28.0 $\pm$ 5.1	12.0 $\pm$ 1.4
Leber	85.9 $\pm$ 19	83.7 $\pm$ 17	52.9 $\pm$ 13.5
Niere	102.2 $\pm$ 14.8	83.7 $\pm$ 23.6	57.7 $\pm$ 6.7
Lunge	113.6	50.9	34.7
Dickdarm	32.9	33.6	20.4
Fett	36.3	9.9	5.2
Magen	7.7	5.4	1.5
Herz	179.9	81.1	62.3
Hoden	53.7	42.9	13.5
Milz	57.8	42.8	20.5

Lipidcholin	5'	10'	20'
Muskel	7.8 $\pm$ 0.6	20.3 $\pm$ 2.2	40.8 $\pm$ 11.8
Dünndarm	60.3	41.3	73.4
Haut	52.8	103.2	70.3
Blut	14.8 $\pm$ 4.9	12.7 $\pm$ 0.7	5.2 $\pm$ 1.1
Leber	41.0 $\pm$ 20.6	66.0 $\pm$ 12.7	67.3 $\pm$ 12.8
Niere	81.5 $\pm$ 11.8	104.2 $\pm$ 4.6	282.5 $\pm$ 14.1
Lunge	399.4	719.8	1066.7
Dickdarm	61.3	91.4	107.8
Fett	56.0	85.0	49.9
Magen	18.2	24.1	32.3
Herz	111.3	137.2	204.6
Hoden	34.6	37.9	41.9
Milz	44.7	69.2	48.6

In Tabelle 4 und in Abbildung 1 ist die prozentuale Verteilung der Radioaktivität auf die einzelnen Organe wiedergegeben. Nach 5 Minuten befand sich der größte Teil mit 45% in der Skelettmuskulatur, dann folgte die Leber mit 14% sowie Niere, Haut und Dünndarm mit jeweils ca. 10%.

3.3. Metabolismus von radiomarkiertem Cholin in den Organen

Wie Tabelle 5 zeigt, nahm die im freien Cholin enthaltene Radioaktivität in allen Organen von der 5. bis zur 20. Minute ab, obwohl die Gesamtradioaktivität annähernd gleich geblieben ist.

Das radiomarkierte Cholin wurde in allen Organen in das Lipidcholin eingebaut, und die Radioaktivität im Lipidcholin nahm im Laufe der Zeit in allen Geweben zu, nur im Blut blieb sie konstant (Tabelle 5). Besonders viel radioaktives Cholin fand sich im Lipid der Lunge, besonders wenig im Lipid des Muskels.

In Tabelle 6 wird dargestellt, wieviel Prozent der Gesamtradioaktivität als freies Cholin vorlag und wieviel als Lipidcholin oder in wasserlöslicher Form.

Von der in den Organen gemessenen Gesamtradioaktivität entfiel nach 20 Minuten 1.7% (Lunge) bis 20.5% (Muskel) auf das freie Cholin (Tabelle 6). In der Lunge wurde demnach das markierte Cholin am schnellsten und in der Muskulatur am langsamsten in andere Verbindungen eingebaut. Ein ebenfalls sehr rascher Cholinstoffwechsel liegt in der Niere und in der Leber vor, wo 2.9% bzw. 5.4% der Gesamtradioaktivität im freien Cholin gemessen wurden. Ähnlich wie in der Muskulatur wurde auch im freien Cholin des Hodens und des Blutes ein relativ hoher Anteil von 16.6% und 25% ermittelt, was darauf hindeutet, daß hier ebenfalls der Cholinstoffwechsel verhältnismäßig langsam abläuft.

In der zweiten Spalte von Tabelle 6 wird angegeben, wie groß der Anteil ist, der von der Gesamtradioaktivität auf das

Tabelle 6

Verteilung der Gesamtradioaktivität der einzelnen Organe nach 20 Minuten auf das freie Cholin (Ch), das Lipidcholin (LCh) und die wasserlöslichen Metabolite (WM), sowie Summe von Cholin und Lipidcholin (C + L).
Angabe in Prozent der Gesamtradioaktivität der Organe.
Muskel, Blut, Leber, Niere n=3, sonst n=1.

	Ch	LCh	C+L	WM
Muskel	20.5	21.6	42.1	57.9
Dünndarm	8.3	21.5	29.8	70.2
Haut	7.5	46.8	54	46
Blut	25	11	36	64
Leber	5.4	6.8	12.2	87.8
Niere	2.9	14.3	17.2	82.8
Lunge	1.7	54.5	56.2	43.8
Dickdarm	9.3	49.4	58.7	41.3
Fett	4.8	46.6	51.4	48.6
Magen	10.3	23	33.3	66.7
Herz	9.0	30	39	61
Hoden	16.6	51.7	68.3	31.7
Milz	7.1	17	24.1	75.9

Tabelle 7

Radioaktivität im Betain (DPM/g $\times 10^3$) nach i.v. Injektion von $20 \mu\text{Ci}$ (^3H -Methyl) Cholin/100 g Körpergewicht.
Mittelwerte und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$). n=3.

	5'	10'	20'
Niere	786 $\pm$ 85	451 $\pm$ 97	280 $\pm$ 63
Leber	81 $\pm$ 23	135 $\pm$ 47	254 $\pm$ 77
Muskel	10.4 $\pm$ 0.4	9.1 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.6

Tabelle 8

Prozentualer Anteil der Radioaktivität im Betain an der Gesamtradioaktivität. Angabe in Prozent der Gesamtradioaktivität.

	5'	10'	20'
Niere	31.0	22.2	14.1
Leber	9.6	13.2	25.5
Muskel	4.4	4.4	2.5

Lipidcholin entfällt. Die höchsten Werte wurden hier mit 45% bis 60% in den Organen Lunge, Fett, Haut, Dickdarm und Hoden gemessen. Wesentlich niedriger fiel der Anteil aus für Leber und Niere mit 6.8% bzw. 14.3%, für die Milz mit 17% sowie für Blut und Muskel mit 11% bzw. 21.6%.

Vergleicht man nun an Hand der ersten beiden Spalten von Tabelle 6, wieviel von der Gesamtradioaktivität im freien Cholin und im Lipidcholin insgesamt vorliegt, dann ist zu erkennen, daß sich in den meisten Organen Werte zwischen 40% und 60% ergeben.

Der Hoden weicht jedoch hinsichtlich der Radioaktivitätsverteilung deutlich ab. Hier entfallen nur 31.7% auf die wasserlöslichen Metabolite, während insgesamt 68.3% im freien Cholin und im Lipidcholin zu messen waren.

Im Gegensatz zum Hoden wurde in drei Organen, nämlich in der Leber, Niere und Milz mit 12%, 17% und 25% deutlich weniger in diesen beiden Fraktionen ermittelt.

Demzufolge wird in diesen drei Organen der weitaus größte Teil der Gesamtradioaktivität mit 88%, 83% und 75% bei den wasserlöslichen Metaboliten wiedergefunden (Tabelle 6).

Da vornehmlich Niere und Leber in der Lage sind, Cholin zum Betain zu oxidieren, wurde deshalb untersucht, wieviel Radioaktivität die Fraktion des Betains enthielt. Die Ergebnisse zeigen die Tabellen 7 und 8. In der Niere nahm der prozentuale Anteil des Betains an der Gesamtradioaktivität von der 5. bis zur 20. Minute von 31.0% auf 14.1% ab, während in der Leber die Radiomarkierung von 9.6% auf 25.5% zunahm. In der Niere fanden sich nach 20 Minuten im Lipidcholin und Betain etwa gleich viel Radioaktivität, in der Leber dagegen ist im Betain etwa viermal soviel Radioaktivität wie im Lipidcholin.

3.4. Cholinstoffwechsel in der Urethannarkose und nach Vorbehandlung mit Phenobarbital

In folgenden werden der Einfluß einer Urethannarkose und der einer dreitägigen Vorbehandlung mit Phenobarbital zum Zweck der Enzyminduktion auf die relativen Organgewichte, die Konzentrationen von freiem Cholin und Lipidcholin sowie die Verteilung und den Stoffwechsel des radiomarkierten Cholins im Vergleich zu den oben beschriebenen Kontrollwerten dargestellt.

3.4.1. Relatives Organgewicht

3.4.1.1. Urethannarkose

Die relativen Organgewichte (g/100 g Körpergewicht) zeigten keine signifikanten Veränderungen gegenüber den Kontrolltieren (Tabelle 9).

3.4.1.2. Vorbehandlung mit Phenobarbital

Wie Tabelle 9 zeigt, hat nach einer dreitägigen Vorbehandlung mit Phenobarbital das Lebergewicht um 40% zugenommen. Das relative Organgewicht steigt von 3.7 g/100 g auf 5.2 g/100 g. Im Magen konnte ebenfalls eine Zunahme des Organgewichtes von 2.9 auf 6.7 g/100 g gemessen werden. Schon bei der Präparation der Organe fiel der prallgefüllte Magen der Tiere auf. Dabei verschiebt sich das Verhältnis von unverdaulichem, grobkörnigem Futter im proximalen Anteil zu homogenem Speisebrei im distalen Magenabschnitt zugunsten des ersten Anteils. Die Gewichte von Dünndarm und Dickdarm sind ebenfalls erhöht, aber die Unterschiede liegen nicht mit Sicherheit außerhalb der Streuung. Das Gewicht von Magen und Darm wurde mit Inhalt bestimmt, die Erhöhung der relativen Organgewichte könnte somit durch verzögerte Entleerung bedingt sein.

Tabelle 9

Relative Organgewichte (g/100 g Körpergewicht) bei Kontrolltieren, in Urethannarkose und nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital. Mittelwerte und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$). In Klammern Anzahl der Tiere. Signifikante Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren im zweiseitigen t-Test: * $p = 0,005$, ** $p = 0,01$.

	Kontrolle	Urethannarkose	Phenobarbital
Leber	3,7 $\pm$ 0,3 (10)	3,9 $\pm$ 0,2 (9)	5,2 $\pm$ 0,22 (7)*
Magen	2,9 $\pm$ 0,8 (4)	2,7 $\pm$ 0,27 (5)	6,7 $\pm$ 0,78 (4)**
Dünndarm	5,2 $\pm$ 0,57 (4)	5,27 $\pm$ 0,5 (5)	5,9 $\pm$ 0,5 (5)
Dickdarm	3,2 $\pm$ 0,6 (4)	3,18 $\pm$ 0,38 (5)	3,6 $\pm$ 0,7 (5)
Lunge	0,53 $\pm$ 0,04 (9)	0,53 $\pm$ 0,06 (5)	0,46 $\pm$ 0,03 (5)
Milz	0,33 $\pm$ 0,07 (7)	0,32 $\pm$ 0,07 (5)	0,31 $\pm$ 0,04 (5)
Niere	0,72 $\pm$ 0,04 (9)	0,76 $\pm$ 0,05 (9)	0,75 $\pm$ 0,05 (8)
Hoden	0,85 $\pm$ 0,22 (4)	0,96 $\pm$ 0,14 (5)	0,97 $\pm$ 0,18 (5)
Herz	0,36 $\pm$ 0,03 (5)	0,37 $\pm$ 0,03 (5)	0,34 $\pm$ 0,03 (5)

3.4.2. Konzentrationen des freien Cholins und Lipidcholins

3.4.2.1. Urethannarkose

Während der Urethannarkose fällt die Konzentration des freien Cholins in der Leber von 72,7 auf 52,3 nMol/g, im Dünndarm von 402 auf 199 nMol/g und in der Lunge von 119 auf 85,2 nMol/g. Die CholinKonzentration steigt im Hoden von 240 auf 381 nMol/g (Tabelle 10). Der Anstieg im Magen von 581 auf 1240 nMol/g - mit großen Schwankungen - ist durch den Mageninhalt bedingt. Die Werte für das Lipidcholin in den untersuchten Organen Leber, Niere und Muskel verändern sich nach 30-45 minütiger Urethannarkose nicht (Tabelle 11).

3.4.2.2. Vorbehandlung mit Phenobarbital

Der größte Effekt auf die Konzentration des freien Chlins nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital zeigt sich

Tabelle 10

Konzentrationen des freien Cholins (μ Mol/g) bei Kontrolltieren, in Urethannarkose und nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital. In Klammern Anzahl der Tiere. Mittelwerte und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$). Signifikante Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren im zweiseitigen t-Test: $^*p=0,05$, $^{**}p=0,1$.

	Kontrolle	Urethannarkose	Phenobarbital
Blut	10,3 $\pm$ 2,9 (8)	12 $\pm$ 3,6 (14)	10,3 $\pm$ 3 (14)
Muskel	60,7 $\pm$ 18,5 (10)	63 $\pm$ 23 (8)	38,3 $\pm$ 12,6 (8) ^{**}
Herz	62 $\pm$ 14,7 (5)	51,5 $\pm$ 16,8 (4)	56,4 $\pm$ 19,9 (5)
Fett	62,2 $\pm$ 11 (5)	52,8 $\pm$ 13,7 (5)	50,7 $\pm$ 11 (5)
Leber	72,7 $\pm$ 14,9 (11)	52,3 $\pm$ 9,8 (9) [*]	68,9 $\pm$ 18,0 (8)
Haut	80,5 $\pm$ 6,6 (4)	113 $\pm$ 34 (5)	103 $\pm$ 25 (5)
Lunge	119 $\pm$ 24 (9)	85,2 $\pm$ 25 (5) ^{**}	125 $\pm$ 32 (5)
Milz	149 $\pm$ 24,5 (7)	164 $\pm$ 27 (5)	146 $\pm$ 9,6 (5)
Dickdarm	163 $\pm$ 20 (5)	142 $\pm$ 40 (5)	115 $\pm$ 12 (5) [*]
Niere	234 $\pm$ 70 (12)	223 $\pm$ 43 (9)	234 $\pm$ 42 (8)
Hoden	240 $\pm$ 66,9 (6)	351 $\pm$ 48,6 (5) [*]	282 $\pm$ 24 (5)
Dünndarm	402 $\pm$ 81 (4)	199 $\pm$ 68,9 (5) ^{**}	208 $\pm$ 63 (5) ^{**}
Magen	581 $\pm$ 467 (5)	1240 $\pm$ 205 (5) ^{**}	884 $\pm$ 439 (5)

Tabelle 11

Konzentrationen des Lipidcholins (μ Mol/g) bei Kontrolltieren, in Urethannarkose und nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital. Mittelwerte aus 4 Bestimmungen und Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$). Signifikante Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Tieren im zweiseitigen t-Test: $^*p=0,05$.

	Kontrolle	Urethannarkose	Phenobarbital
Leber	18,06 $\pm$ 1,09	18,77 $\pm$ 1,99	22,15 $\pm$ 1 [*]
Niere	15,2 $\pm$ 1	14,27 $\pm$ 0,91	15,3 $\pm$ 0,8
Muskel	7,4 $\pm$ 1,6	7,45 $\pm$ 0,62	7,69 $\pm$ 0,5

in der Muskulatur. Hier fällt die CholinKonzentration um 37% von 60,7 auf 38,3 nMol/g (Tabelle 10). Diese Befunde konnten auch von TH.SCHWARTZKOPFF (Inaugural-Dissertation 1975) erhoben werden.

Auch im Dünndarm und Dickdarm fällt die CholinKonzentration leicht ab, nämlich von 402 nMol/g (Ko) auf 208 nMol/g bzw. von 163 auf 115 nMol/g.

Die Konzentration des Lipidcholins (Tabelle 11) erhöht sich nach dreitägiger Phenobarbitalvorbehandlung in der Leber um 22,6% von 18,06 μ Mol/g auf 22,15 μ Mol/g. Diese Befunde stehen in Übereinstimmung mit Messungen von WIRTZ und ZILVER-SMIT (1969) und G.SCHWARTZKOPFF (Inaugural-Dissertation in Vorbereitung). Wie in den Untersuchungen von MÜCK (Inaugural-Dissertation 1975) fanden sich im Muskel und auch in der Niere keine Veränderungen der Lipidkonzentration.

3.4.3. Verteilung und Stoffwechsel von radiomarkiertem Cholin

3.4.3.1. Urethannarkose

Die Verteilung von i.v.appliziertem radiomarkiertem Cholin war unter Urethannarkose im Vergleich zu Kontrolltieren deutlich verändert: Wie Tabelle 12 zeigt, befand sich in der Niere und in der Leber zwischen 70 und 50% mehr Gesamtradioaktivität (DPM/g), während die Organe Lunge, Herz, Muskel, Magen und Dickdarm zwischen 20 und 40% weniger (^3H -Methyl) Cholin pro Gramm Organgewicht aufnahmen. Dabei waren Veränderungen der Gesamtradioaktivität im Blut sowie in den übrigen Organen auf Grund der Streuungen nicht sicher festzustellen.

Unter Urethannarkose war während des Untersuchungszeitraums in 10 von 13 untersuchten Organen das freie Cholin niedriger radiomarkiert als bei Kontrolltieren (Tabelle 13). Diese Verminderung lag zwischen 80 und 50% im Muskel, Dünndarm und in der Haut und zwischen 50 und 10% im Blut, in der Niere, Lunge, im Dickdarm, Fett, Herz und Hoden. In diesen Organen war mit Ausnahme des Herzens auch der prozentuale Anteil des freien

Tabelle 12

Gesamtradioaktivität (DPM/g $\times 10^3$) nach i.v. Injektion von 20 μ Ci (3 H-Methyl) Cholin/100g Körpergewicht unter Urethannarkose. Blut, Niere, Leber, Muskel n=3, sonst n=1. Jeweils in der rechten Spalte Veränderungen gegenüber den Kontrollwerten in Prozent (vgl. Tabelle 5).

	5'		10'		20'	
Niere	3672 $\pm$ 130	+45	3331 $\pm$ 160	+64	2789 $\pm$ 299	+41
Lunge	876	-31	1049	-32	1317	-30
Leber	1276 $\pm$ 309	+52	1912 $\pm$ 154	+87	1735 $\pm$ 198	+75
Herz	332	-48	372	-36	380	-44
Milz	462	+76	302	- 6	354	+24
Muskel	177 $\pm$ 29	-24	138 $\pm$ 22	-33	171 $\pm$ 23	-10
Blut	108 $\pm$ 33	0	57 $\pm$ 14	-37	43 $\pm$ 3.2	-12
Haut	92	-14	127	+24	114	-24
Fett	54	-48	67	-29	129	+21
Hoden	95	- 2	64	-26	77	- 5
Dünndarm	321	- 7	258	+32	268	-22
Dickdarm	91	-31	91	-49	104	-52
Magen	75	0	56	-37	47	-66

Cholins vermindert. Im Herzen war der prozentuale Anteil des freien Cholins an der Gesamtradioaktivität gegenüber den Kontrolltieren unverändert, da auch weniger Gesamtradioaktivität gemessen wurde. Im Magen wurden zwischen 250 und 47% mehr Radioaktivität im freien Cholin gemessen.

Auch das Lipidcholin war in allen oben angeführten Organen - außer in der Niere - niedriger markiert und zwar zwischen 60 und 95% im Dünndarm, Dickdarm, Magen, in der Haut, im Herzen und im Hoden und zwischen 10 und 40% im Muskel und in der Lunge (Tabelle 13).

Eine Ausnahme hinsichtlich der Veränderungen des Stoffwechsels von radiomarkiertem Cholin unter Urethannarkose bilden die Organe Leber und Niere.

Tabelle 15

Radioaktivität (DPM/g $\times 10^3$) im freien Cholin und im Lipidcholin nach i.v. Injektion von 20 μ Ci (3 H-Methyl) Cholin/100g Körpergewicht unter Urethannarkose. Blut, Niere, Leber, Muskel n=3, sonst n=1. Jeweils in der rechten Spalte Veränderungen gegenüber den Kontrollwerten in Prozent (vgl. Tabelle 5). Bei 20' ist der prozentuale Anteil der Radioaktivität des Cholins (Ch%) bzw. Lipidcholins (Lip%) an der Gesamtradioaktivität angegeben (vgl. Tabelle 6).

Cholin	5'		10'		20'		Ch%
Muskel	47 $\pm$ 9.3	-60	35 $\pm$ 21	-56	23 $\pm$ 22	-41	13.5
Dünndarm	50	-66	37	-49	3.5	-87	1.3
Haut	44	+66	15	-34	4.1	-63	3.5
Blut	48.7 $\pm$ 12	-17	25 $\pm$ 7.2	-11	10 $\pm$ 2.3	-18	23
Leber	129 $\pm$ 3.5	+50	165 $\pm$ 9.5	+97	117 $\pm$ 43.6	+21	6.7
Niere	71 $\pm$ 11	-30	75 $\pm$ 27	-10	52 $\pm$ 6.7	-10	1.8
Lunge	50	-55	29	-43	20	-42	1.4
Dickdarm	42	-28	23	-31.5	7.7	-62	7.4
Fett	16	-56	9	-10	3.5	-33	2.7
Magen	27	+250	10	+85	2.2	+47	4.6
Herz	87	-51	59	-27	37	-40	9.7
Hoden	48	-11	34	-21	24	-77	31
Milz	208	+260	62	+45	14	-32	3.9

Lipidcholin	5'		10'		20'		Lip%
Muskel	6.2 $\pm$ 2	-20	12 $\pm$ 3	-40	39 $\pm$ 10	-2.5	22.8
Dünndarm	14	-92	30	-26	38	-47	14
Haut	10	-80	24	-76	41	-41	36
Leber	64 $\pm$ 26	+56	93 $\pm$ 31	+41	144 $\pm$ 54	+114	8.2
Niere	216 $\pm$ 79	+166	328 $\pm$ 64	+215	576 $\pm$ 97	+104	20.6
Lunge	352	-12	712	-1	961	-10	70
Dickdarm	11	-81	39	-57	46	-57	44
Fett	4	-93	18	-83	66	+35	51
Magen	6	-66	7.7	-68	9	-72	19
Herz	7	-94	48	-65	79	-61	21
Hoden	8	-74	5.5	-85	8	-87	10
Milz	14	-66	26	-62	62	+28	17.5

Tabelle 14

Radioaktivität (DPM/g $\times 10^3$) im Betain nach i.v. Injektion von 20 μ Ci (3 H-Methyl) Cholin/100 g Körpergewicht unter Urethannarkose. n=3. Jeweils in der rechten Spalte Veränderungen gegenüber den Kontrollwerten in Prozent (vgl. Tabelle 7).

	5'	10'	20'
Niere	1135 $\pm$ 239 +44	1217 $\pm$ 171 +170	240 $\pm$ 96 -14
Leber	139 $\pm$ 45 +72	312 $\pm$ 54 +130	287 $\pm$ 75 +13
Muskel	7.2 $\pm$ 0.6 -30	8.6 $\pm$ 0.4 - 5	6.7 $\pm$ 0.8 +40

Tabelle 15

Prozentualer Anteil der Radioaktivität im Betain an der Gesamtradioaktivität unter Urethannarkose (vgl. Tabelle 8). Angabe in Prozent der Gesamtradioaktivität.

	5'	10'	20'
Niere	30	36	8.6
Leber	11	16	17
Muskel	4	6.2	3.9

In der Leber befand sich etwa gleich viel Radioaktivität wie bei Kontrolltieren im freien Cholin und im Lipidcholin. Der prozentuale Anteil des freien Cholins betrug nach 20 Minuten 6.7% (Ko: 5.4%) und der des Lipids 8.2% (Ko: 6.8%) (Tabelle 13). Jedoch wurde ins Betain ca. 50-100% mehr radiomarkiertes Cholin inkorporiert (Tabelle 14).

Wie Tabelle 13 zeigt, fand sich in der Niere in Urethannarkose ein deutlicher Anstieg der Radioaktivität der Lipidfraktion: Nach 20 Minuten befanden sich 20.6% (Ko: 14%) der Gesamtradioaktivität im Lipid. Der prozentuale Anteil der Radioaktivität im freien Cholin war vermindert und betrug nach 20 Minuten nur 1.8% (Ko: 2.9%). Im Betain der Niere fand sich nach 5 und 10 Minuten deutlich mehr, nach 20 Minuten etwa gleich viel Radioaktivität (Tabelle 14).

Tabelle 16

Gesamttradioaktivität (DPM/g $\times 10^3$) nach i.v. Injektion von 20 μ Ci (3 H-Methyl) Cholin/100 g Körpergewicht nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital. Blt, Niere, Leber, Muskel n=3, sonst n=1. Jeweils in der rechten Spalte Veränderungen gegenüber den Kontrollwerten in Prozent (vergl. Tabelle 3).

	5'		10'		20'
Niere	2283 $\pm$ 492	-10	2365 $\pm$ 460	+16	1993 $\pm$ 365 +0.8
Lunge	2131	+69	1439	- 6	2365 +20
Leber	652 $\pm$ 52	-22	966 $\pm$ 36	- 5	846 $\pm$ 44 -15
Herz	579	-10	511	-13	620 - 9
Milz	298	+ 9	422	+31	318 +11
Muskel	211 $\pm$ 14	-10	163 $\pm$ 11	-20	222 $\pm$ 49 +17
Blut	104 $\pm$ 10	- 4	74 $\pm$ 8.7	-19	51 $\pm$ 8.3 + 4
Haut	159	+49	119	-29	143 - 5
Fett	88	-15	138	+47	51 -52
Hoden	93	- 4	125	+45	109 -35
Dünndarm	269	-22	292	+49	196 -43
Dickdarm	118	-11	133	-25	176 -19
Magen	79	+ 5	67	-25	92 -34

3.4.3.2. Vorbehandlung mit Phenobarbital

Auf eine Veränderung in der Verteilung des radiomarkierten Cholins aus dem Blut nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital kann auf Grund der Werte aus Tabelle 16 nicht geschlossen werden.

In 9 von 13 untersuchten Organen wurde das aus dem Blut aufgenommene radiomarkierte Cholin nach Phenobarbitalvorbehandlung schneller als bei Kontrolltieren metabolisiert. Aus Tabelle 17 ist zu erkennen, daß das freie Cholin um etwa 50 bis 80% vermindert markiert war im Muskel, Dünndarm und Fett und um 20 bis 50% in den Organen Haut, Blut, Dickdarm, Leber,

Tabelle 17

Radioaktivität (DPM/g $\times 10^3$) im freien Cholin und im Lipidcholin nach i.v. Injektion von 20 μ Ci (3 H-Methyl) Cholin/100 g Körpergewicht nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital. Blut, Niere, Leber, Muskel n=3, sonst n=1. Jeweils in der rechten Spalte Veränderungen gegenüber den Kontrollwerten in Prozent (vgl. Tabelle 5). Bei 20 Minuten ist der prozentuale Anteil des Cholins bzw. Lipidcholins an der Gesamtradioaktivität angegeben (vgl. Tabelle 6).

Cholin	5'		10'		20'		Ch%
Muskel	46	± 18 -60	31	± 14 -61	6.3	± 1.3 -84	2.8
Dünndarm	54	-63	23	-68	15	-47	7.6
Haut	24	-9	14	-32	6.7	-40	4.6
Blut	44	± 4.6 -6	19	± 4 -32	9.8	± 1.6 -20	19
Leber	57	± 4.6 -34	39	± 9.7 -53	52	± 2.2 0	6.1
Niere	127	± 19 +25	83	± 20 0	61	± 12 +6	3
Lunge	93	-18	50	-2	30	+4	1.5
Dickdarm	24	-27	25	-26	16	-22	9
Fett	13	-64	7	-29	1	-80	2
Magen	9.4	+22	2.6	-52	1.4	-7	1.5
Herz	124	-31	85	+5	38	-39	6.1
Hoden	54	-1	49	+14	39	+180	35
Milz	43	-25	29	-32	12	-41	3.7

Lipidcholin	5'		10'		20'		Lip%
Muskel	31	± 13 +295	37	± 4 +85	106	± 35 +165	47
Dünndarm	25	-58	41	0	35	-52	17
Haut	49	-6	27	-74	51	-27	36
Leber	21	± 1.6 -49	42	± 9 -36	73	± 20 -4	3.6
Niere	123	± 26 +52	233	± 77 +124	402	± 80 +43	20
Lunge	776	+94	580	-19			
Dickdarm	49	-20	61	-33	49	-54	28
Fett	30	-46	57	0	23	-53	46
Magen	9.5	-47	6.8	-72	9.1	-72	9.4
Herz	48	-57	67	-51	181	-11	19.6
Hoden	10	-70	19	-49	24	-60	22
Milz	12	-73	26	-62	52	-34	16

Herz und Milz. Entsprechend nahm der prozentuale Anteil der Radioaktivität des freien Cholins an der Gesamtradioaktivität in diesen Organen ab. In den übrigen Organen Niere, Lunge, Magen und Hoden unterschied sich die Radiomarkierung des freien Cholins nicht von den Kontrolltieren.

Wie weiter aus Tabelle 17 hervorgeht, führte dieser beschleunigte Stoffwechsel von freiem Cholin nach Phenobarbitalvorbehandlung allerdings nur im Muskel und in der Niere zu einem verstärkten Einbau von (^3H -Methyl) Cholin in das Lipidcholin. Im Muskel betrug der Anteil der Gesamtradioaktivität, der auf das Lipid entfiel, nach 20 Minuten 47% (Ko: 21.6%) und in der Niere 20% (Ko: 14.3%).

In den Organen Dünndarm, Dickdarm, Magen, Haut, Fett, Herz, Milz, Hoden, Leber wurde sogar eine um 40-70% verminderte Radiomarkierung des Lipids gefunden (Tabelle 17). Auch der prozentuale Anteil des Lipids an der Gesamtradioaktivität war in diesen Organen geringer als bei Kontrolltieren. Vermutlich wurde demnach in den eben genannten Organen radiomarkiertes Cholin verstärkt nach Phenobarbitalvorbehandlung in andere wasserlösliche Metabolite eingebaut.

In der Leber und im Muskel konnte eine um 60-100% erhöhte Radioaktivität im Betain gemessen werden, was sich auch in einer Erhöhung des prozentualen Anteils des Betains an der Gesamtradioaktivität ausdrückt (Tabelle 18 und 19). Dagegen führte der oben beschriebene, deutlich vermehrte Einbau von (^3H -Methyl) Cholin in das Lipid der Niere in diesem Organ zu einer relativ geringeren Radiomarkierung des Betains. Der prozentuale Anteil des Betains an der Gesamtradioaktivität machte nach 20 Minuten nur 10% (Ko: 14.1%) aus (Tabelle 18 und 19).

Tabelle 18

Radioaktivität (DPM/g $\times 10^3$) im Betain nach i.v. Injektion von 20 μ Ci (3 H-Methyl) Cholin/100 g Körpergewicht nach dreitägiger Phenobarbitalvorbehandlung. n=3.
Jeweils in der rechten Spalte Veränderungen gegenüber den Kontrollwerten in Prozent (vgl. Tabelle 7).

	5'		10'		20'	
Niere	583	$\pm$ 81 -26	354	$\pm$ 103 -22	201	$\pm$ 53 -28
Leber	167	$\pm$ 23 +106	212	$\pm$ 48 +57	182	$\pm$ 14 -28
Muskel	5.7	$\pm$ 2.2 -43	14.6	$\pm$ 4.2 +60	8.6	$\pm$ 1.6 +79

Tabelle 19

Prozentualer Anteil der Radioaktivität im Betain an der Gesamtradioaktivität nach dreitägiger Phenobarbitalvorbehandlung (vgl. Tabelle 8).
Angabe in Prozent der Gesamtradioaktivität.

	5'	10'	20'
Niere	26	15	10
Leber	26	22	22
Muskel	2.8	8.9	3.9

4. Diskussion

Ziel der Experimente war es, bei der Ratte die Verteilung von i.v.appliziertem radiomarkiertem Cholin aus dem Blut in die Organe zu untersuchen und Anhaltspunkte für dessen weiteres Schicksal im Stoffwechsel der einzelnen Organe zu gewinnen. Die gleichen Untersuchungen wurden in Urethannarkose und nach dreitägiger Phenobarbitalvorbehandlung durchgeführt und sollten mit den Ergebnissen unter Kontrollbedingungen verglichen werden.

4.1. Unbehandelte Tiere

Bereits eine Minute nach i.v.Gabe einer Tracerdosis radiomarkierten Cholins waren im Blut nur noch 4.8% der applizierten Dosis nachweisbar. Diese schnelle Elimination von Cholin aus dem Blut entspricht den von HUNT (1915), BLIGH (1953), APPLETON (1953), GARDINER und PATON (1972) und HAUBRICH, WANG und WEDEKING (1975) an der Ratte und anderen Spezies erhobenen Befunden. Der größte Teil der Radioaktivität, nämlich 95,2%, wurde innerhalb einer Minute in die Organe aufgenommen. Dieser schnelle Übertritt zeigt, daß Cholin sehr leicht die Kapillarmembranen passieren kann, obwohl derartig polare Substanzen in der Regel gut wasserlöslich und schlechter lipidlöslich sind und deshalb auch schlecht durch Membranen durchtreten. Vermutlich ist die geringe Molekülgröße des Cholins dafür maßgebend, daß die Substanz mit dem Wasser kleinere Poren der Membranen passieren kann.

In alle untersuchten Organe wurde radiomarkiertes Cholin aufgenommen.

Setzt man die gemessene Radioaktivität (DPM/g) in Beziehung zum Organgewicht (Tabelle 3), so zeigt sich, daß in Niere, Leber, Lunge und Herz etwa 10 bis 20 mal mehr Cholin als in die übrigen Organe inkorporiert wurde. Dies bestätigt die Befunde von GARDINER und PATON (1972), die ebenfalls die höchste Radioaktivität in diesen vier Organen nach Gabe von

Me ^{14}C -Cholin fanden.

Absolut gesehen nimmt die Muskulatur mit 45% den größten Teil der applizierten Dosis auf.

Der Vergleich mit der endogenen Cholinkonzentration (Tabelle 3) zeigt, daß die inkorporierte Radioaktivität direkt abhängig ist von der Cholinkonzentration der Organe, was den Befunden von HAUBRICH, WANG und WEDEKING (1975) entspricht. So beträgt der Quotient der pro Gramm inkorporierten Radioaktivität zur Cholinkonzentration (DPM/g / nMol/g) in Lunge, Leber, Niere und Herz ca. 11, obgleich die Cholinkonzentration um den Faktor 4, nämlich von 234 bis 62 nMol/g, differiert. Innerhalb einer zweiten Organgruppe - in Fett, Haut und Milz - betrug dieser Quotient 1.3 bis 1.8. In den Organen Muskel und Hoden betrug der Quotient 0.4 bzw. 3.8. Diese Organe lassen sich also keiner der beiden Organgruppen zuordnen.

Die etwa fünffach stärkere Aufnahme von radiomarkiertem Cholin kann mit dem unterschiedlichen Anteil am Herzminutenvolumen erklärt werden. Es fällt auf, daß gerade die Organe mit einem verhältnismäßig hohen Anteil am Herzminutenvolumen (ASCHOFF 1955) wie Leber, Niere, Herz und Lunge der Organgruppe angehören, die 5 mal mehr Cholin aufnahm. Zu der zweiten Organgruppe, die erheblich weniger Cholin aufnahm, gehören Fett und Haut, also Organe, deren Blutversorgung geringer ist.

Während des 20 minütigen Untersuchungszeitraumes nahm die Radioaktivität im freien Cholin der Organe kontinuierlich ab. Da die Gesamtradioaktivität (DPM/g) aber nahezu konstant blieb, muß diese Verminderung als Folge des in den Organen stattfindenden Cholinmetabolismus angesehen werden. Ein Abströmen der inkorporierten Radioaktivität aus den Organen ist somit wenig wahrscheinlich.

Am schnellsten erfolgte die Metabolisierung in der Lunge und in der Niere (1.7 bzw. 2.9% der Gesamtradioaktivität im

freien Cholin), am langsamsten im Muskel, im Blut und im Hoden (20, 25 bzw. 16,6% der Gesamtradioaktivität im freien Cholin). In den übrigen 8 Organen lagen die Werte zwischen 4.8 und 10.3%.

Um weitere Informationen über den Cholinmetabolismus zu erhalten, wurde untersucht, wieviel der pro Gramm gemessenen Gesamtradioaktivität in der Fraktion der wasserlöslichen Metabolite sowie im Lipidcholin vorlagen.

In Übereinstimmung mit den Befunden von HAUBRICH, WANG und WEDEKING (1975) wurde auch in dieser Arbeit in den meisten Organen 40 bis 60% der Gesamtradioaktivität in den wasserlöslichen Metaboliten gefunden. Am höchsten war dieser Anteil in Leber, Niere und Milz mit Werten von 75 bis 87%. Diese hohe Verstoffwechslung zu wasserlöslichen Metaboliten ist in der Leber und Niere möglicherweise darauf zurückzuführen, daß hier Cholin in nennenswerter Weise zu Betain oxidiert werden kann (BERNHEIM and BERNHEIM 1933; WOHLRAB 1963). Nach 20 Minuten lagen in diesen beiden Organen 14 bzw. 25% der Gesamtradioaktivität als Betain vor.

Bei der Analyse der Inkorporation von radiomarkiertem Cholin in das Lipidcholin, die im wesentlichen die Lecithinsynthese darstellt, können zwei Organgruppen unterschieden werden: Ein relativ geringer Anteil von 10-30% der Gesamtradioaktivität fand sich in Muskel, Blut, Leber, Magen, Herz, Dünndarm und Milz im Lipidcholin, während die Werte in Dickdarm, Fett, Hoden und Lunge 46-55% betrug. Somit scheint in diesen letztgenannten Organen das Ausmaß der Lecithinsynthese größer zu sein.

Der Anteil von 54.5% der Gesamtradioaktivität, der in der Lunge im Lipid gefunden wurde, deutet darauf hin, daß hier die Lecithinsynthese quantitativ am bedeutsamsten ist. Diese Interpretation wird durch die Befunde von MÜCK (Inaugural-Dissertation 1975) gestützt, der feststellte, daß in der Lunge die Syntheserate von Phosphatidylcholin um etwa 4-8 mal höher ist als in Herz und Muskel. Die Ursache dieses besonders

aktiven Lezithinstoffwechsels könnte mit der Notwendigkeit erklärt werden, den ständigen Verlust von Phospholipiden als Surfactants zu ersetzen (TIERNEY, CLEMENTS and TRAHAN 1967).

4.2. Urethannarkose

Während der Urethannarkose wurde in die Muskulatur, in Magen, Dickdarm, Lunge und Herz deutlich weniger radiomarkiertes Cholin aus dem Blut aufgenommen als bei den vergleichbaren Kontrolltieren. Dagegen wurde in die Leber und Niere beträchtlich mehr Cholin inkorporiert.

Dies könnte Folge einer narkosebedingten Veränderung der Durchblutung sein, wobei es zu Gunsten von Leber und Niere zu einer Minderdurchblutung der übrigen Organe kommt.

Eine weitere Ursache für die veränderte Verteilung radio-markierten Cholins in den Organen könnte in dem erheblich gesteigerten Einbau von Cholin in das Lezithin bzw. Abbau zu wasserlöslichen Metaboliten in den Organen Leber und Niere liegen. Dieser beschleunigte Stoffwechsel müßte zu einer gesteigerten und bevorzugten Aufnahme in diese beiden Organe führen, sodaß für die Inkorporation in die restlichen Organe weniger markierte Cholinmoleküle zur Verfügung stehen.

Hinsichtlich der Metabolisierung des vermehrt eingebauten radiomarkierten Cholins unterscheiden sich Leber und Niere deutlich.

Während in der Leber der Anteil an der Gesamtradioaktivität in den wasserlöslichen Metaboliten und im Lipid unverändert war, wurde in der Niere ein deutlich größerer Anteil in das Lipid und in das Betain umgewandelt. In der Leber ist demnach vermutlich der vermehrte Einbau radiomarkierten Cholins in das Lipid und ins Betain lediglich Folge einer vermehrten Aufnahme von Cholin.

In der Niere dagegen scheint die Rate der Lezithinsynthese wie auch der Oxidation zu Betain beschleunigt zu sein.

Ein auf Grund des verstärkten Einbaus radiomarkierten Cholins zu erwartender Anstieg der LipidcholinKonzentration in der Niere konnte nach nur 40 minütiger Urethannarkose nicht gemessen werden. Dies kann damit erklärt werden, daß die Umsatzzeiten des Lipidcholins erheblich länger sind als der Untersuchungszeitraum und eine Zunahme um nur wenige nMol im Bereich der Meßgenauigkeit liegt.

Andererseits könnte eine dritte Ursache für die veränderte Verteilung radiomarkierten Cholins in Urethannarkose auch eine narkosebedingte Hemmung der Phospholipidsynthese in allen Organen mit Ausnahme von Niere und Leber sein. In 10 von 13 untersuchten Organen wurde nämlich in Urethannarkose deutlich weniger (^3H -Methyl) Cholin als bei Kontrolltieren in das Lipidcholin eingebaut. Auch für das Gehirn, das in dieser Arbeit nicht untersucht wurde, liegen Untersuchungsergebnisse vor, die eine Verlangsamung des Phospholipidumsatzes in Narkose beschreiben: Die Umsatzzeit der Phospholipide des Gehirns ist um 15% verlängert (DAWSON und RICHTER 1950). In das Phosphatidylcholin wurde 75% weniger ^{32}P inkorporiert, in das Phosphatidyläthanolamin 67% weniger (ANSELL und DOHMEN 1957). DIAMOND (1971) fand einen um 70% geringeren Einbau von radiomarkiertem Cholin in das Hirnlipid. Die Konzentration des Glycerylphosphorylcholins - des Abbauproduktes des Lezithins - ist um 25% niedriger (DROSS und KEWITZ 1967 und 1968).

Dieser verminderte Lipidstoffwechsel würde in diesen Organen dazu führen, daß weniger Cholin aus dem Blut aufgenommen wird. Dadurch stünden für die Aufnahme in Leber und Niere entsprechend mehr radiomarkiertes Cholin zur Verfügung.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß eine Urethannarkose beträchtlichen Einfluß auf die Verteilung und den Stoffwechsel von i.v.appliziertem radiomarkiertem Cholin hat. Deshalb soll daraufhingewiesen werden, daß Untersuchungsergebnisse, die an narkotisierten Tieren erhoben werden, nicht ohne weiteres Aussagen über den Cholinstoffwechsel bei wachen

Tieren zulassen.

4.3. Vorbehandlung mit Phenobarbital

Während über Veränderungen der Verteilung von radiomarkiertem Cholin auf die Organe nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital eine eindeutige Aussage nicht gegeben werden kann, da die Werte erheblich streuen, zeigt der Vergleich der im freien Cholin und im Lipidcholin gefundenen Werte mit den bei den Kontrolltieren erhobenen Befunden deutliche Veränderungen.

Mit Ausnahme von Niere, Lunge, Magen und Hoden, wo nach Vorbehandlung mit Phenobarbital ein sicherer Unterschied nicht feststellbar war, wurde in allen übrigen Organen im freien Cholin zwischen 30 und 80% weniger Radioaktivität gefunden. Auch im Lipidcholin wurde mit Ausnahme von Niere und Muskel im Mittel 45% weniger Radioaktivität in allen übrigen Organen gemessen. Auch in den Untersuchungen von MÜCK (Inaugural-Dissertation 1975) war die Umsatzzeit des Lipidcholins nach Phenobarbitalvorbehandlung im Herzen um etwa 40% verlangsamt. Es ist daher zu vermuten, daß hier eine verminderte Synthese von Phosphatidylcholin vorliegt. Dies wird gestützt durch die Untersuchungen von ALRIDGE und PARKER (1960), die eine Hemmung der oxidativen Phosphorylierung durch Barbiturate nachwiesen. Eine Einschränkung der Produktion von energiereichen Phosphatestern mußte sich hemmend auf die ersten Schritte der Lezithinsynthese auswirken, da bei der Phosphorylierung von Cholin und der Bildung von CDP-Cholin diese energiereichen Phosphate nötig sind.

Besonders deutliche und bemerkenswerte Veränderungen des Stoffwechsels von radiomarkiertem Cholin nach Phenobarbitalvorbehandlung zeigten sich in der Leber und im Muskel.

In Übereinstimmung mit Angaben in der Literatur (WIRTZ und ZILVERSMIT 1969; G. SCHWARTZKOPFF, Inaugural-Dissertation in Vorbereitung) fand sich nach dreitägiger Vorbehandlung mit

Phenobarbital in der Leber eine Zunahme der LipidcholinKonzentration um 22.6% von 18.06 auf 22.15 $\mu\text{Mol/g}$. Dieser Anstieg der Phospholipide ist Ausdruck einer Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums, wobei gleichzeitig die Aktivität verschiedener, an seine Struktur gebundener Enzyme gesteigert ist (REMMER 1959 und 1963; REMMER und MERKER 1963; ORRHENIUS, ERICSSON und ERNSTER 1965; ZEIDENBERG, ORRHENIUS und ERNSTER 1967; WIRTZ und ZILVERSMIT 1969; YOUNG, POWELL und McMILLAN 1971).

Als Ursache für die Phospholipidvermehrung in der Leber kommt eine Steigerung der Synthese nicht in Betracht, es muß vielmehr eine Hemmung des Lezithinabbaus vermutet werden. In den eigenen Untersuchungen konnte eine Steigerung des Einbaus von (^3H -Methyl) Cholin in das Leberlezithin nicht nachgewiesen werden. Nach Gabe von verschiedenen radiomarkierten Vorstufen des Lezithins konnte G. SCHWARTZKOPFF (Inaugural-Dissertation in Vorbereitung) zeigen, daß weder der Einbau dieser Substanzen über den Kennedy-Weg ($\text{PCh} \rightarrow \text{CDP-Ch} \rightarrow \text{LCh}$) noch die Methylierung von Phosphorylathanolamin nach Phenobarbitalvorbehandlung gesteigert ist. Die in diesen Untersuchungen um die Hälfte vermindert gefundene Konzentration des Abbauproduktes des Lezithins - des Glycerylphosphorylcholins - weist auf eine Abbauehemmung hin.

In der Skelettmuskulatur ist nach Phenobarbitalvorbehandlung die Konzentration des Lipidcholins nicht verändert, jedoch ist der Einbau von radiomarkiertem Cholin in das Lipid vermehrt. Diese Befunde wurden auch von TH. SCHWARTZKOPFF (Inaugural-Dissertation 1975) und MÜCK (Inaugural-Dissertation 1975) erhoben. Da die Phosphorylierungsrate des Cholins nicht erhöht ist (MÜCK Inaugural-Dissertation 1975), kann die vermehrte Radioaktivität nicht durch gesteigerten Einbau über den Kennedy-Weg bedingt sein. Die Untersuchungsergebnisse von TH. SCHWARTZKOPFF (Inaugural-Dissertation 1975) weisen darauf hin, daß der Austausch von Cholin im Phospholipid mit dem freien Cholin nach Phenobarbitalvorbehandlung im Muskel

erheblich gesteigert ist.

Die nach Phenobarbitalvorbehandlung beobachtete Abnahme der CholinKonzentration im Muskel um 37% von 60.7 auf 38.3 nMol/g kann durch den gesteigerten Austausch von freiem Cholin gegen im Lipid gebundenes Cholin allein nicht erklärt werden, da hierbei nur markierte gegen nichtmarkierte Cholinmoleküle ausgetauscht werden. TH. SCHWARTZKOPFF führt die Konzentrationsabnahme im freien Cholin auf einen durch Phenobarbital ebenfalls erhöhten oder erst hervorgerufenen Austausch gegen lipidgebundenes Äthanolamin oder Serin zurück.

Aus den eigenen Befunden ist zu ersehen, daß dieser gesteigerte Einbau von (^3H -Methyl) Cholin in das Lipidcholin nicht zu einer Mehraufnahme von radiomarkiertem Cholin aus dem Blut in die Muskulatur führt, da die Gesamtradioaktivität gegenüber den Kontrolltieren sich nicht veränderte. Es kann deshalb daraus geschlossen werden, daß die gleiche Menge aufgenommenen radiomarkierten Cholins lediglich in einem anderen Verhältnis in wasserlösliche Metabolite und in das Lipid verstoffwechselt wurde: Radiomarkiertes Cholin wurde vermehrt in das Lipidcholin dagegen erheblich weniger in wasserlösliche Metabolite eingebaut.

Obwohl auch die Niere in der Lage ist, Arzneimittel enzymatisch abzubauen, kommt es nach Phenobarbitalvorbehandlung weder zu einer Gewichtszunahme noch zu einer Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums oder zu einer Steigerung der Aktivität von mikrosomalen Enzymen (UEHLEKE und GREIM 1968). Diesen Befunden entspricht die Beobachtung in den eigenen Untersuchungen, daß ein Anstieg der Konzentration des Lipidcholins, das ein wesentlicher Bestandteil der Membranen des endoplasmatischen Retikulums ist, in der Niere nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital nicht auftrat.

5. Zusammenfassung

Die Verteilung und der Stoffwechsel von intravenös appliziertem (^3H -Methyl) Cholin wurde bei Ratten unter Kontrollbedingungen, nach dreitägiger Vorbehandlung mit Phenobarbital sowie in Urethannarkose nach Inkorporationszeiten von 1 bis 20 Minuten untersucht.

Nach 1 Minute waren 95.2% der injizierten Dosis radiomarkierten Cholins aus dem Blut eliminiert.

Die Aufnahme in die Organe ist abhängig von der endogenen Cholinkonzentration. Bezogen auf die Cholinkonzentration wurde in die Niere, Lunge, Leber und in das Herz etwa 5 mal mehr radiomarkiertes Cholin als in die übrigen Organe aufgenommen, was mit dem verhältnismäßig hohen Anteil am Herzminutenvolumen dieser vier Organe erklärt werden kann. Absolut gesehen nimmt die Muskulatur mit 45% der applizierten Dosis den größten Teil auf.

Radiomarkiertes Cholin wurde in allen Organen rasch metabolisiert, am schnellsten in der Lunge und Niere, am langsamsten im Muskel, Blut und Hoden.

In den meisten Organen fanden sich zwischen 40 und 60% der vorhandenen Radioaktivität in den wasserlöslichen Metaboliten. In das Lipidcholin wurde im Muskel, Blut, Magen, Herz, Dünndarm, in der Leber und der Milz etwa 10-30% der Gesamtradioaktivität inkorporiert, während die Werte im Dickdarm, Fett, Hoden und in der Lunge 46-55% betrugten.

In Urethannarkose wurde in die Muskulatur, Lunge, in den Magen, Dickdarm und in das Herz deutlich weniger, dagegen in die Leber und Niere beträchtlich mehr Cholin aufgenommen. Mit Ausnahme von Leber und Niere wurde in allen Organen deutlich weniger (^3H -Methyl) Cholin als bei Kontrolltieren in das Lipidcholin eingebaut.

Nach dreitägiger Phenobarbitalvorbehandlung ließen sich Ver-

Änderungen der Verteilung radiomarkierten Cholins nicht sicher feststellen.

Im Lipidcholin wurde mit Ausnahme von Niere und Muskel in allen übrigen Organen im Mittel 45% weniger Radioaktivität gemessen.

Die Lipidcholinkonzentration in der Leber nahm um 22.6% zu, was durch eine Abbauehemmung der Phospholipide verursacht wird.

Im Muskel wird das aufgenommene radiomarkierte Cholin deutlich weniger in wasserlösliche Metabolite, dagegen erheblich mehr - vermutlich über einen gesteigerten Basenaustausch - in das Lipidcholin eingebaut.

LITERATURVERZEICHNIS

- ABDEL - LATIF, A. and SMITH, J.: Studies on choline transport and metabolism in rat brain synaptosomes
 Biochem. Pharmac. 21, 3005-3021 (1972)
- ALDRIDGE, W.N. and PARKER, V.H.: Barbiturates and oxydative phosphorylation
 Biochem. J. 76, 47-56 (1960)
- ANSELL, G.B. and DOHMEN, V.H.: The metabolism of individual phospholipids in the rat brain during hypoglycaemia, anaesthesia and convulsions
 J. Neurochem. 2, 1-10 (1957)
- APPLETON, H., LA DU, B., LEVY, B., STEELE, J. and BRODIE, B.: A chemical method for the determination of free choline in plasma
 J. Biol. Chem. 205, 803-813 (1953)
- ASCHOFF, J.: Regelgrößen des Kreislaufs
 Nauheimer Fortb.-Lehrg. 20, 2-17 (1955)
- BABO, L.v. und HIRSCHBRUNN, M.: Mitteilungen aus dem chemischen Laboratorium zu Freiburg. Über das Sinapin.
 Ann. d. Chem. 84, 10 (1852)
- BALINT, J.A., BEELER, D.A., TREBLE, D.A. and SPITZER, H.L.: Studies in the biosynthesis of hepatic and biliary lecithins
 J. Lipid Res. 8, 486-493 (1967)
- BERNHEIM, F. and BERNHEIM, M.: Oxidation of acetylcholine by tissues
 Amer. J. Physiol. 104, 438-440 (1933)
- BJERVE, K.S.: The phospholipid substrates in the Ca^{2+} - stimulated incorporation of nitrogen bases into microsomal phospholipids
 Biochim. Biophys. Acta 306, 396-402 (1973)
- BLIGH, J.: The role of the liver and the kidneys in the maintenance of the level of free choline in plasma
 J. Physiol. 120, 53-62 (1953)
- BOEHM, K.: Über das Vorkommen und die Wirkungen des Cholins und die Wirkungen der künstlichen Muscarine
 Arch. exp. Path. u. Pharm. 19, 87 (1885)
- BREMER, J., FIGARD, P. and GREENBERG, D.M.: The biosynthesis of choline and its relation to phospholipid metabolism
 Biochim. Biophys. Acta 43, 477-488 (1960)

- BREMER, J. and GREENBERG, D.M.: Methyl transferring enzyme system of microsomes in the biosynthesis of lecithin
Biochim. Biophys. Acta 46, 205-216 (1961)
- CHANG, H. and GADDUM, J.: Choline esters in tissue extracts
J. Physiol. 79, 255-285 (1933)
- DAWSON, R.M.C. and RICHTER, H.: The phosphorus metabolism of the brain
Proc. roy. Soc. 137, 252-267 (1950)
- DIAMOND, J.: Choline metabolism in brain
Arch. Neurol. 24, 333-339 (1971)
- DIAMOND, J. and MILFAY, D.: Uptake of (^3H -Methyl) Choline by microsomal, synaptosomal, mitochondrial and synaptic vesicle fractions of rat brain
J. Neurochem. 19, 1899-1909 (1972)
- DILS, R.R. and HÜBSCHER, G.: The incorporation in vitro of Me- ^{14}C -Choline into the phospholipids of the rat liver mitochondria
Biochim. Biophys. Acta 32, 293-294 (1959)
- DILS, R.R. and HÜBSCHER, G.: Metabolism of phospholipids
Biochim. Biophys. Acta 46, 505-513 (1961)
- DROSS, K.: Die wasserlöslichen Cholinverbindungen des Gehirns
 Inaugural-Dissertation (Math. Naturwiss. Fak. FU Berlin) (1965)
- DROSS, K. und KEWITZ, H.: Der Einbau von i.v. zugeführtem Cholin in das Acetylcholin des Gehirns
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 255, 10-11 (1966)
- DROSS, K. und KEWITZ, H.: Der Einbau von Cholin in das Acetylcholin während der Narkose und bei der DFP-Vergiftung
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 257, 13-25 (1967)
- DROSS, K. und KEWITZ, H.: Konzentration von Acetylcholin, Cholin und GPC im Gehirn während der Narkose und bei der DFP-Vergiftung
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 260, 107-116 (1968)
- DROSS, K. und KEWITZ, H.: Concentration and origin of choline in the rat brain
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 274, 91-106 (1972)
- ELLINGER, Ph.: Über die Verteilung injizierten Cholins im Tierkörper
Münchener Med. Wochenschrift 61, 2336-2338 (1914)
- GARDINER, J. and PATON, W.: The control of the plasma choline concentration in the cat
J. Physiol. 227, 71-86 (1972)

- HAUBRICH, D., WANG, P. and WEDEKING, P.: Distribution and metabolism of intravenously administered choline(methyl-³H) and synthesis in vivo of acetylcholine in various tissues of guinea pigs
J. pharmacol. and exper. therap. 193, 246-255 (1975)
- HODGKIN, A. and MARTIN, K.: Choline uptake by giantaxons of *Loligo*
J. Physiol. 179, 26 P (1965)
- HOLTZMANN, J.L. and GILLETTE, J.R.: The effect of pheno-barbital on the synthesis of microsomal phospholipid in female and male rats
Biochem. Biophys. Res. Commun. 24, 639-643 (1966)
- HOLTZMANN, J.L. and GILLETTE, J.R.: The effect of pheno-barbital on the turnover of microsomal phospholipid in male and female rats
J. Biol. Chem. 243, 3020-3028 (1968)
- HUNT, R.: A physiological test for choline and some of its applications
J. pharmacol. 7, 301-337 (1915)
- INFANTE, R., PETIT, D., POLONOVSKI, J. and CAROLI, J.: Microsomal phospholipid biosynthesis after pheno-barbital administration
Experientia 27, 640-641 (1971)
- KAKÁČ, B. und VEJDELEK, Z.J.: Handbuch der Kolorimetrie
Jena, 1963, Band II, 141f, 480ff, 899.
- KENNEDY, E.P. and WEISS, S.B.: The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipids
J. Biol. Chem. 222, 193-214 (1956)
- KEWITZ, H.: Nachweis von 4-amino-n-butyrylcholin im Warmblütergehirn
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharm. 237, 308-318 (1959)
- KRAUPP, O. und PAUMGARTNER, G.: Abgabe von freiem Cholin aus der innervierten und denervierten Skelettmuskulatur
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharm. 243, 508-518 (1962)
- LANDS, W.E.M.: Metabolism of glycerolipides II
J. Biol. Chem. 235, 2233-2237 (1960)
- LANDS, W.E.M. and Merkl, I.: Metabolism of glycerolipides III
J. Biol. Chem. 238, 898-904 (1963)
- MARTIN, K.: Concentrative accumulation of choline by human erythrocytes
J. gen. physiol. 51, 497-516 (1968)

- MÜCK, R.: Inkorporation von ^{14}C -Cholin in die Phospholipide von Herz, Muskel und Lunge und ihre Beeinflussung durch Vorbehandlung mit Phenobarbital und durch Urethan-narkose
Inaugural-Dissertation (1975) FU Berlin
- ORRHENIUS, S., ERICSSON, J.L.E. and ERNSTER, L.: Pheno-barbital induced synthesis of the microsomal drug-metabolizing enzyme system
J. Cell. Biol. 25, 627-239 (1965)
- OS, G. van, ARIENS, E. and SIMONIS, A.: Molecular Pharmacology
Academic Press, New York, 1964
- REMMER, H.: Der beschleunigte Abbau von Pharmaka in den Leber-mikrosomen unter Einfluß von Luminal
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm. exp. Path. 235, 279 (1959)
- REMMER, H.: Die Ursache der Gewöhnung an oxydable Barbiturate
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm. exp. Path. 244, 311 (1963)
- REMMER, H. und MERKER, H.J.: Enzyminduktion und Vermehrung von endoplasmatischem Retikulum in der Leberzelle während der Behandlung mit Phenobarbital
Klin. Wochenschrift 41, 276-283 (1963)
- RIGLER, R., ROSENKRANZ, W. und MORE, A.: Milz und Plasma-cholinspiegel
Wien. klin. Wschr. 15, 27-29 (1961)
- SANDFORD, P. and SMYTH, D.: Choline transport by the small intestine
J. physiol. 205, 16P - 17P (1969)
- SCHUBERTH, J., SUNDWALL, A., SÖRBO, B. and LINDELL, J.: Uptake of choline by mouse brain slices
J. Neurochem. 13, 347-352 (1966)
- SCHUBERTH, J., SPARF, B. and SUNDWALL, A.: Distribution and metabolism of radioactive choline in the mouse with special reference to the biosynthesis of acetylcholine
J. Neurochem. 16, 695-700 (1969)
- SCHWARTZKOPFF, TH.: Untersuchungen über den Stoffwechsel des Lipidcholins in der Skelettmuskulatur der Ratte und seine Beeinflussung durch Phenobarbital
Inaugural-Dissertation FU Berlin (1975)
- STONE, W.E.: Acetylcholine in the brain I
Arch. Biochem. 59, 181-192 (1955)

- STRECKER, A.: Beobachtungen über die Galle verschiedener Tiere
Ann. d. Chem., 84, 10 (1849)
- SUNG, CH. and JOHNSTONE, R.: Evidence for active transport of choline in rat kidney cortex slices
Can. J. Biochem. 43, 1111-1118 (1965)
- TIERNEY, D.F., CLEMENTS, J.A. and IRAHAN, H.J.: Rates of replacement of lecithins and alveolar instability in rat lung
Am. J. Physiol. 213, 3, 671-676 (1967)
- UEHLCKE, H. and GREIM, H.: Stimulation of drug oxydation in kidney microsomes
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 261, 152-161 (1968)
- WIRTZ, K.W.A. and ZILVERSMIT, D.B.: The use of phenobarbital and carbon tetrachloride to examine liver phospholipid exchange in intact rats
Biochim. Biophys. Acta 187, 468-476 (1969)
- WOHLRAB, F.: Histochemische Untersuchungen zum Nachweis der Cholindehydrogenase beim Säugetier
Histochemie 3, 286-297 (1963)
- Young, D.L., POWELL, G. and McMILLAN, W.O.: Phenobarbital-induced alterations in phosphatidylcholine and tri-glycerid synthesis in hepatic endoplasmatic reticulum
J. Lipid Res. 12, 1-8 (1971)
- ZEIDENBERG, P., ORRHENIUS, S. and ERNSTER, L.: Increase in levels of glucuronylating enzymes and associated rise in activities of mitochondrial oxydative enzymes upon phenobarbital administration in the rat
J. Cell. Biol. 32, 528-531 (1967)

Herrn Prof. Dr. med. H. Kewitz danke ich für die Überlassung des Themas, die Arbeitsmöglichkeit an seinem Institut und für die großzügige Unterstützung bei der Abfassung der Arbeit.

Besonderer Dank gilt Herrn Dr. vet. med. O. Pleul und Herrn Dr. med. Th. Schwartzkopff für die wertvolle Zusammenarbeit.

LEBENS LAUF

Name: Julia-Maria Baumgarten
26.12.1949 in Lutherstadt Wittenberg als Tochter des
Obergewerberates Dipl.Ing. Joachim Baum-
garten und seiner Ehefrau Rosemarie
geboren
11. 2.1969 Reifeprüfung am neusprachlichen Gymnasium
der Franziskus-Schule, Berlin-Schöneberg
ab SS 1969 Medizinstudium an der FU Berlin
13. 2.1975 Medizinisches Staatsexamen an der FU Berlin
1. 5.1975 Medizinalassistentenzeit an der Medizin.
bis Klinik des Klinikums Charlottenburg, der
30. 4.1976 Augenklinik des Klinikums Steglitz und in
der Chirurgischen Abteilung des Städtischen
Krankenhauses Spandau-Süd in Berlin
3. 5.1976 Approbation als Arzt
seit Wissenschaftliche Assistentin im Institut
23. 6.1976 für Anaesthesiologie des Klinikums
Charlottenburg, FU Berlin

